

Aktuelle Entwicklungen bei der Geschlechtsbestimmung im Hühnerei

Aus und vorbei mit dem Überraschungsei?

Das Töten männlicher Küken von Legelinien ist heute eine ethische Frage mit grosser gesellschaftspolitischer Tragweite. Die Geflügelwirtschaft und die Wissenschaft sind fieberhaft auf der Suche nach Alternativen. Der nachfolgende Beitrag von Autoren der beiden Universitäten Leipzig und Dresden, die massgeblich an der Erforschung von technischen Lösungen zur Geschlechtsbestimmung im Brutei beteiligt sind, gibt einen Überblick zum gegenwärtigen Stand der Technik.

T. Bartels. Hohe Legeleistung und gleichzeitig hohe Mastleistung schliessen sich aus, was die gleichzeitige Optimierung beider Nutzungseigenschaften beim Haushuhn verhindert. In der Wirtschaftsgeflügelhaltung kommen deshalb spezialisierte Lege- und Mastlinien zum Einsatz. Während die Hennen bei den Mastlinien ebenfalls der Fleischproduktion dienen, wird der überwiegende Teil der Hähne von Legelinien unmittelbar nach dem Schlupf aussortiert und anschliessend tierschutzgerecht getötet. Eine wirtschaftliche Mast und Vermarktung der Hähne ist nicht oder nur für einen Nischenmarkt möglich.

Die Vermeidung der routinemässigen Tötung männlicher Eintagsküken ist aber zu einem Anliegen von erheblicher ethischer, rechtlicher und gesellschaftspolitischer Tragweite geworden. Dies gilt in besonderem Masse für die Bio-Eierproduktion, die von der Problematik genauso betroffen ist wie die konventionelle Produktion.

Allein in Deutschland werden jährlich rund 45 Millionen männliche Küken getötet und überwiegend als «Futterküken» verwendet. Weltweit wird der Bestand an Legehennen auf rund 7 Milliarden Tiere geschätzt. Die Entwicklung von Alternativen zum Kükentöten würde also auf internationaler Ebene einen wertvollen Beitrag zur Lösung der Problematik liefern.

Praxistaugliche Alternativen zum Kükentöten stehen zwar bislang noch nicht zur Verfügung, die Forschung und Entwicklung in diesem Bereich wird jedoch mit Hochdruck vorangetrieben.

Bruderhähne oder Zweinutzungshühner?

Die mangelnde Rentabilität der Aufzucht der «Legehennenbrüder» resultiert unter anderem aus ihrer längeren Mastdauer, einer tieferen Mastleistung bei höherem Futteraufwand und einem geringeren Anteil am besonders geschätzten Brustfleisch. Die Schlachtkörper entsprechen auch optisch nicht dem Verbraucherideal vom «vollfleischigen Brathähnchen» und

benötigen besondere Zubereitungsverfahren, was eine Vermarktung auf breiter Basis erschwert. Die Mast von männlichen Legehybriden und ihre Vermarktung als sogenannte «Bruderhähne» sind daher als Nischenproduktion zu betrachten.

Alternativ wird durch Kreuzung von Mast- und Legelinien die Zucht sogenannter «Zweinutzungshühner» als Kompromisslösung verfolgt. Solche bereits kommerziell erhältlichen Zuchtlinien, wie zum Beispiel «Lohmann Dual», weisen allerdings noch deutlich geringere wirtschaftliche Leistungen (geringere Legeleistung und Eigrosse, höherer Futterverbrauch bei längerer Mastdauer, weniger Brustmuskulatur) als die spezialisierten Lege- und Mastlinien auf. Trotz Akzeptanz durch den Konsumenten lässt sich zum jetzigen Zeitpunkt nur ein sehr spezielles Marktsegment mit Produkten von Zweinutzungshühnern bedienen.

Geschlechtsbestimmung im Ei: die Lösung des Problems?

Zahlreiche Verfahrenserfindungen zur Lösung des Problems über eine Geschlechts-Frühbestimmung im Ei wurden zur Patentierung angemeldet oder in Pressemitteilungen bekundet («Durchbrüche bei der Geschlechtsfrüherkennung»). Den vorliegenden Unterlagen ist jedoch meist nicht zu entnehmen, inwieweit sich die jeweiligen Erfindungen auch praktisch umsetzen lassen. Oft fehlen auch wissenschaftlich überprüfbare Angaben zur Methodik, zur Diagnosegenauigkeit sowie zu weiteren relevanten Aspekten (Schnelligkeit, laufende Kosten, Präzision, Schlupfrate, Tiergesundheit und Leistungsparameter der Hennen usw.).

«Hypereye»-Verfahren

Gerade zu dem in Kanada entwickelten «Hypereye»-Verfahren fehlen genauere Angaben zur Methodik. Das «Hyperspectral imaging» am unbebrüteten Ei soll nicht nur die Bestimmung der Befruchtung, sondern auch des Geschlechts erlauben.

«EggXYt»-Verfahren

Das sog. «EggXYt»-Verfahren wird ebenfalls als eine praktikable Möglichkeit für die in ovo-Geschlechtsbestimmung bei Hühnern diskutiert (www.eggxyt.com). Es beruht auf Genmanipulation mittels artfremder Fluoreszenz-Markergene. Erreicht werden kann dies durch die Erzeugung gentechnisch veränderter Hennen auf Elterntierebene. Durch Kennzeichnung des Z-Chromosoms von Zuchthennen mit einem Biomarker (einem grün fluoreszierenden, aus Quallen isolierten Protein) können bei Verpaarung mit nicht gentechnisch veränderten Hähnen auf Vermehrungsebene bereits vor der Bebrütung männlich determinierte Eier anhand ihres Fluoreszenzverhaltens identifiziert und aussortiert werden. Die aus solchen Verpaarungen schlüpfenden Legehennenküken weisen keine Fremdgene auf.

«SELEGGT»-Verfahren

Bei der unter der Bezeichnung «SELEGGT-Verfahren» propagierten endokrinologischen Methodik kann das Geschlecht nach 9-tägiger Bebrütung bestimmt werden. Die Bruteier werden dazu aus dem Brutschrank genommen, positioniert und auf Befruchtung getestet. Alle Eier, in denen Embryonen nachgewiesen wurden, werden anschliessend mit einer feinen Nadel punktiert. Aus der zu diesem Entwicklungszeitpunkt bereits ausgedehnten embryonalen Harnblase wird eine geringe Flüssigkeitsmenge entnommen. In dieser Flüssigkeit befindet sich bei einem weiblichen Embryo ein weibliches Geschlechtshormon (Östronsulfat). Mittels eines Markers, der auf das Vorhandensein von Östronsulfat mit einem Farbumschlag reagiert, lassen sich jetzt Bruteier, die weibliche Embryonen enthalten, von «männlichen» Eiern sowie nicht entwicklungsfähigen Eiern unterscheiden. Für die automatische Beprobung zur Hormonalanalyse soll laut Medienberichten auf der Euro-Tier 2018 in Hannover erstmals eine Vorrichtung (SELEGGT Acus) präsentiert

worden sein, die automatisch die korrekte Positionierung der Eier sowie eine Probenentnahme von Allantoisflüssigkeit und deren Überführung in die Messeinrichtung ausführen soll. Als gegenwärtig realisierte Stundenleistung wird ein Durchsatz von 3500 Eiern angegeben (www.seleggt.de).

«In Ovo»-Verfahren

Eine Analyse nicht näher benannter Biomarker, die ebenfalls durch Punktion der embryonalen Harnblase gewonnen werden, wird auch bei dem in den Niederlanden entwickelten «In Ovo»-Verfahren als Methode zur Fruchtbarkeits- und Geschlechtsbestimmung bebrüteter Eier verwendet (<https://project.inovo.nl>).

Magnetresonanztomografie

Im Rahmen eines kürzlich von der Technischen Universität München vorgestellten Ansatzes sollen Magnetresonanztomografie und künstliche Intelligenz in der Auswertung der Daten verknüpft werden, um den Befruchtungstatus von Eiern noch vor Brutbeginn sowie das Geschlecht der Embryonen noch vor dem siebten Bruttag präzise zu bestimmen. Die Kombination dieser beiden Technologien soll es ermöglichen, zum einen das Töten von männlichen Eintagsküken zu stoppen und zum anderen nicht befruchtete Eier in der Lebensmittelindustrie zu verwerten. Laut Pressemitteilung der TU München vom 28. Juni 2018 wird besonders die Methode zur Bestimmung des Befruchtungstatus als ausgereift betrachtet. Die Geschlechtsbestimmung funktioniert auch, bedürfe aber noch mehr Forschungsarbeit, um die Genauigkeit zu verbessern. Mit der Installation eines Prototyps in einer Brüterei wird in den nächsten zwei Jahren gerech-

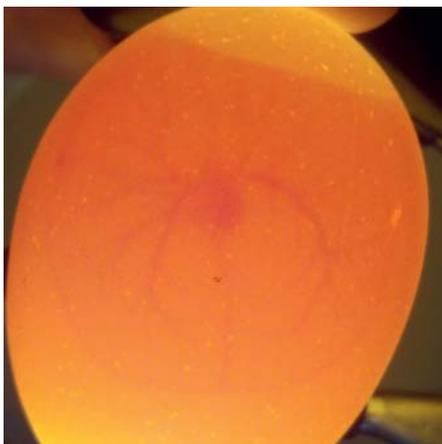


Bild: Am 4. Bruttag sind die embryonalen Blutgefäße beim Durchleuchten sichtbar.
Foto: G. Preusse, TU Dresden

net. Das Magnetresonanz-Gerät zur Bestimmung der Befruchtung der Eier und des Geschlechts der Embryonen soll dabei identisch sein, nur die Bildauswertung muss auf die jeweilige Messaufgabe hin optimiert werden.

Spektroskopische Verfahren

Bei den spektroskopischen Untersuchungen der befruchteten Eier werden Lichtstrahlen in das geöffnete beziehungsweise ungeöffnete Ei gesendet. Von den Blutgefässen des sich in Entwicklung befindlichen Embryos werden bestimmte Wellenlängen zurückgestrahlt, wobei sich diese bei männlichen und weiblichen Embryonen unterscheiden.

An der Entwicklung praxistauglicher Verfahren zur Geschlechtsbestimmung im Ei mittels dieser spektroskopischen Methode arbeitet seit geraumer Zeit ein interdisziplinär zusammengesetztes Forschungskonsortium der Technischen Universität Dresden und der Universität Leipzig, zusammen mit Wirtschaftspartnern, darunter die Lohmann Tierzucht GmbH, ein bedeutendes Unternehmen in der Legehennenzucht. Die Förderung dieser Forschungsarbeiten erfolgt zurzeit noch durch das deutsche Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft (Förderkennzeichen 2813IP003).

Im Folgenden soll das spektroskopische Verfahren genauer vorgestellt werden.

Spektroskopische Geschlechtsbestimmung im Ei: Vorteile, Verfahren und Perspektiven

Ein wesentlicher Aspekt ist der Zeitpunkt der Geschlechtsbestimmung, da die Empfindungsfähigkeit auch bei Vogel-embryonen bis zu einem bestimmten Entwicklungsstadium noch nicht entwickelt ist. Vor dem siebten Bebrütungstag ist nach gegenwärtigem Kenntnisstand noch keine Empfindungsfähigkeit beim Hühnerembryo zu erwarten. Die spektroskopischen Analyseverfahren sind bereits zu einem frühen Zeitpunkt, nämlich am vierten Bebrütungstag einsetzbar und erlauben innerhalb weniger Sekunden einen detaillierten Einblick in die molekulare Zusammensetzung komplexer biologischer Stoffsysteme.

Mit Blick auf die Optimierung der Geschlechtsbestimmung für die industrielle Anwendung kristallisierte sich nach lang-

jährigen Untersuchungen die Fluoreszenz- und Nahinfrarot-Ramanspektroskopie als die geeignetste Methode zur Geschlechtsbestimmung heraus. Deren grosser Vorteil ist unter anderem die kontaktlose Untersuchung. Die Geschlechtsbestimmung erfolgt nach rund dreieinhalb Bebrütungstagen. Da sich zu diesem Zeitpunkt bereits ein embryonales Blutgefässsystem entwickelt hat, lassen sich Blutbestandteile sowie die beim Vogel über einen Zellkern verfügbaren Erythrozyten als Informationsträger für eine Geschlechtsdiagnose nutzen. Die Lichtspektren männlicher Blutzellen weisen gegenüber denen weiblicher Blutzellen geringfügig stärkere Signale im Bereich der Nukleinsäuren sowie eine stärkere Fluoreszenz auf. Mittels eines neuartigen, patentierten multiplen Klassifikations-Algorithmus ergibt sich zurzeit eine Prognosegenauigkeit von mehr als 95%.

Vorteile spektroskopischer Verfahren

Gegenüber den auf biochemischer Analytik basierenden Methoden bieten spektroskopische Verfahren aus ökonomischer Sicht mehrere Vorteile. Dazu zählen unter anderem die extrem niedrigen Verbrauchskosten (Verschlussmaterial für als «weiblich» identifizierte Eier), aber auch Möglichkeiten, die sich aus dem sehr frühen Untersuchungszeitpunkt ergeben. So können während der spektroskopischen Messung nicht entwicklungsfähige Eier erkannt und aus dem Brutprozess entfernt werden. Die spektroskopischen Untersuchungen sind kontaktlos, d.h. es muss kein biologisches Material entnommen werden. Somit müssen zwischen den einzelnen Messungen keine Geräteteile oder Materialien gereinigt oder sogar ersetzt werden, wodurch das Risiko einer Verschleppung von Keimen enorm verringert wird.

Eine Messung dauert einschliesslich des Erhalts der Geschlechtsinformation nur wenige Sekunden, wodurch eine Sortierung der Eier nahezu in Echtzeit ermöglicht wird. Im Gegensatz zu zeitintensiven Verfahren der Geschlechtsbestimmung ist eine Zwischenlagerung der Eier im Brutschrank bis zum Erhalt der Ergebnisse nicht notwendig. Ein weiterer Vorteil des Verfahrens ist der frühe Zeitpunkt der Geschlechtsbestimmung nach dreieinhalb Tagen Bebrütung. Vor dem siebten Bebrütungstag ist wie bereits erwähnt keine Sensitivität des Hühnerembryos zu erwarten. Zudem entfallen komplizierte

Tötungsmethoden der männlichen Embryonen. Darüber hinaus ist eine Verwertung der aussortierten Eier als tierische Nebenprodukte möglich, beispielsweise als hochwertige Proteinquellen für die Verarbeitung in Futtermitteln.

Drei Schritte: Öffnen, Analysieren und Wiederverschliessen des Eies

Für die ursprünglich gewählte Methodik der Geschlechtsdiagnose stellt die Eischale noch eine undurchdringliche Barriere dar, sodass zunächst ein optischer Zugang geschaffen werden muss. Diese Öffnung in der Eischale erfolgt durch den Einsatz geeigneter CO₂-Laser, die im Bruchteil einer Sekunde einen definierten, scharf randbegrenzten Abtrag der Kalkschale ermöglichen, wobei noch ein dünner Steg der Kalkschale erhalten bleibt. Dies stellt sicher, dass keine energiereiche Laserstrahlung ins Innere des Eies gelangt und der Embryo nicht geschädigt wird. Durch eine Kreisbewegung des stark fokussierten Laserstrahls wird eine Sollbruchstelle erzeugt.

Nach Öffnung der Kalkschale erfolgt die spektroskopische Analyse. Hierzu muss der Anregungslaser exakt in das Zentrum eines embryonalen Blutgefässes fokussiert werden. Zur Automatisierung wurde ein Zwei-Kamera-System entwickelt, mit welchem die Auswahl geeigneter Blutgefässe erfolgt. Die Spektren der von embryonalem Blut zurückgestreuten Strahlung weisen neben den Ramanbanden («molekularer Fingerabdruck») eine geschlechtsspezifische, intensive Fluoreszenz auf, die bei männlichen Tieren im Mittel stärker ausgeprägt ist. Auch die spektrale Verlaufsform der Fluoreszenz ist bei einer Anregungswellenlänge von 785 nm stark geschlechtsabhängig und wird zur Klassifizierung genutzt.

Für den Verschluss der Bruteier nach erfolgter Geschlechtsbestimmung wurden verschiedene Materialien getestet und miteinander verglichen. Eine sehr gute Eignung konnte für verschiedene medizinische Pflaster nachgewiesen werden, die gut verträglich sind und zudem einen stabilen Verschluss unter Beibehaltung einer gewissen Durchlässigkeit ermöglichen.

Verfahren technisch umgesetzt

Die zur EW-Group gehörende Agri Advanced Technologies GmbH (AAT GmbH; www.agri-at.com) hat mittlerweile eine technische Lösung entwickelt, die auf

den Ergebnissen der oben beschriebenen Grundlagenforschung zur spektroskopischen Geschlechtsbestimmung aufbaut.

Gemäss eigenen Angaben der Firma konnten in umfangreichen Voruntersuchungen die Funktionalität und die Vorteile dieses Ansatzes hinsichtlich der Genauigkeit der Geschlechtsbestimmung und der Beeinflussung der Schlupfraten eindeutig nachgewiesen werden.

Künftig Analyse am intakten Ei?

Anfang 2018 gelang ein weiterer entscheidender Durchbruch in der Weiterentwicklung der spektroskopischen Methode. Basierend auf den über mehrere Jahre gewonnenen Kenntnissen, wo und wie das Geschlecht im Ei codiert ist, kann die Methode nunmehr auch bei intakter Eischale angewendet werden. Das Ei muss also nicht mehr aufwändig geöffnet und danach wieder verschlossen werden.

Nach 3,5-tägiger Bebrütung kann das embryonale Blutgefässsystem bereits durch die Eischale mit blossen Auge erkannt werden. Für die Geschlechtsbestimmung wird nun ein bestimmter spektraler Teil des Lichtes genutzt. Dazu wird das Ei mit einer herkömmlichen Lichtquelle durchleuchtet. Das von den Blutgefässen reflektierte, transmittierte und auch gestreute Licht wird auf der Eischale aufgefangen und spektroskopisch analysiert. Da das Licht neben den geschlechtsrelevanten Informationen aus dem Blut auch Informationen zu anderen Inhaltsstoffen des Eies trägt, müssen verschiedene mathematische Filter- und Separationsverfahren kombiniert werden, um letztlich die gewünschten, zur Geschlechtsbestimmung verwendbaren Signale zu erhalten.

Kein Ei gleicht dem anderen, und so ist gegenwärtig die Beherrschung der optischen Variabilität der Eischale noch anspruchsvoll. Sobald alle störenden Einflussfaktoren in den Spektren eliminiert sind, lässt sich anhand des Hämoglobinspektrums das Geschlecht identifizieren. Die spektroskopische Messung erfolgt innerhalb von wenigen Sekunden. Bereits unmittelbar danach können als «männlich» identifizierte Bruteier ebenso wie unbefruchtete beziehungsweise nicht entwicklungsfähige Eier aussortiert und einer weiteren Verwendung zugeführt werden. In den Laborversuchen wurden bisher einfache, preiswerte Spektrometer eingesetzt, ein wichtiger Aspekt für den

wirtschaftlichen Praxiseinsatz in der Legehennenvermehrung.

Ziel künftiger Forschungsarbeiten soll es sein, die Methodik rasch und effektiv für den Einsatz in der Brüteriepraxis zu adaptieren, um damit einen wichtigen Beitrag zur Vermeidung des Kükentötens leisten zu können. Die Automatisierung des Prozesses stellt jedoch dabei eine grosse Herausforderung dar, da Bruteier keine genormten Industrieprodukte sind, sondern eine hohe Variabilität aufweisen (Schalenfarbe, Kalkschalendicke, Entwicklungszustand, Verlauf der Gefässe usw.). Praxistests sollen auch Aufschluss über die Fehlerrate im praktischen Einsatz liefern. Denn die aus fehlsortierten Eiern schlüpfenden Hähne müssten ja aufgezogen und verwertet werden.

T. Bartels¹, K. Cramer¹, R. Galli², E. Koch², G. Preusse², C. Schnabel², G. Steiner² und M.-E. Krautwald-Junghanns¹

¹Universität Leipzig, Veterinärmed. Fakultät, Klinik für Vögel und Reptilien

²Technische Universität Dresden, Medizinische Fakultät Carl Gustav Carus, Klinisches Sensing und Monitoring ■